

بررسی اثرات فیزیولوژیکی استرس بر ترکیبات عضله و تغییرات هورمون کورتیزول در ماهی سوف در دریای خزر (*Stizostedion lucioperca*)

• ساناز غفوری صالح و • شهلا جمیلی

مرکز تحقیقات شیلات ایران

• فاطمه عباسی

عضو هیأت علمی دانشگاه الزهرا

تاریخ دریافت: اسفند ماه ۱۳۸۵ پذیرش: آبانماه ۱۳۸۶

Email: salehsaghi@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق اثرات فیزیولوژیکی استرس بر ترکیبات عضله و تغییرات هورمون کورتیزول و سلول‌های خونی در ماهی سوف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمونه‌برداری این پروژه با هدف بررسی تغییرات کورتیزول در شرایط استرس و همچنین تغییرات بیوشیمیایی بافت عضلانی بررسی شد. پس از قرارگیری ماهیها در شرایط استرس‌زا از نوع Chronic handling، میزان ترکیبات عضله (پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر) و تغییرات هورمون کورتیزول در دو فصل پاییز و زمستان اندازه‌گیری شد. نوسانات هورمون کورتیزول در طی ۴ دوره نمونه‌گیری و آزمایش سنجش میزان کورتیزول پلاسما در خون ماهیان حاکی از افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) در ماهیان استرس دیده نسبت به ماهیان شاهد می‌باشد. میزان پروتئین در طی ۴ دوره نمونه‌گیری، به طور کلی افزایش معنی‌دار یافته و میزان رطوبت کاهش معنی‌دار یافت ($p < 0.05$).

کلمات کلیدی: کورتیزول، استرس، سوف

Pajouhesh & Sazandegi No 79 pp: 87-94

Study of effect of physiological stress on cortisol and muscle compounds in *Stizostedion lucioperca*

By: S. Ghafouri Saleh, S. Jamili and F. Abbasi

In this research, stress physiological effects on muscle compound and cortisone's hormonal variations for Zander are being analysed. samplings of this project variations under stress conditions as well as biochemical changes referring to muscle tissue when zanders were put under stressful conditions type chronic handling' rate of their muscle compounds (protein, fat, humidity, ash) and also cortisone's hormonal variations were measured for two seasons namely Autumn and Winter. during 4 periods of sampling and measuring in relation to cortisone's hormonal fluctuations, rate of plasma cortisone for fish's blood showed a significant increase ($p < 0.05$). this rate for stressed fish to witness fish is comparable. during 4 periods of sampling, rate of protein has a total significant increase ($p < 0.05$) is meaning a decreased significant rate of humidity which resulted in our experiment.

Keywords: Cortisol, Stress, Zander

کورا انتهایی که به رودخانه ارس می‌رسد، خلیج Divichinskiy، رودخانه کامباشینکا و شمال رودخانه‌های سفیدرود و اترک و خلیج انزلی توزیع می‌شوند (۵).

ماهی سوف در زمستان دوره آرامش ندارد ولی در این زمان نسبت به تابستان کمتر به صید می‌پردازد. در دریاچه خزر عده‌ای از ماهیان سوف مهاجر و عده‌ای ساکن هستند که رشد نوع مهاجر آنها، سریع‌تر است. ماهی سوف در زمان تخم‌ریزی تغذیه نمی‌کند. به طور کلی جنس ماده نسبت به جنس نر از رشد بهتری برخوردار است (۲).

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: در این تحقیق ۲۸ قطعه نمونه ماهی مورد مطالعه قرار گرفت. ماهی سوف از آب‌های ساحلی پل دشت صید شده و در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی در پل دشت تکثیر می‌شود. نمونه‌های مورد مطالعه از پل دشت به کارگاه سیاهکل شیلات گیلان منتقل شد.

نمونه‌ها در هر دوره به ۲ گروه شاهد و استرس دیده تقسیم شد که نمونه‌ها تحت استرس از نوع استرس دستی (Handling Chronic) قرار گرفتند. بعد از خونگیری از ماهی‌ها بلافاصله با استفاده از سانتریفیوژ سرم آن تهیه شد. نمونه‌های بافت عضلانی در ۲۰- درجه سانتیگراد برای اندازه‌گیری چربی تام، پروتئین تام، رطوبت و خاکستر به آزمایشگاه منتقل شدند.

نمونه‌های شاهد به یک وان در حالت سکون و آرامش منتقل شدند و نمونه‌های تحت استرس به یک وان منتقل شدند که علاوه بر محدود شدن محل نگهداری و ایجاد استرس از طریق محدودیت جا و برخورد ماهی‌ها به یکدیگر، در فواصل دو ساعت در آب تلاطم ایجاد کرده و استرس به طور یکسان به نمونه‌ها منتقل شده و پس از آخرین مرحله ایجاد استرس خونگیری اندازه‌گیری بیواسی هورمون کورتیزول با استفاده از روش RIA (Radio Immuno Assay) صورت گرفت.

مقادیر هورمون کورتیزول با استفاده از کیت Immuntech (ساخت فرانسه) اندازه‌گیری شد. محاسبات بر اساس واحد میکروگرم بردی لیترا

مقدمه

یکی از ارزش‌ترین خانواده‌های دریایی، خانواده سوف ماهیان می‌باشد که از فیزیولوژی و رفتارهای تغذیه‌ای در زمان استرس این ماهی را از سایرین متمایز می‌کند.

سوف متعلق به خانواده Seranidae می‌باشد و یکی از گونه‌های مهم این خانواده *Stizostedion lucioperca* است که نسبت به ماهی سوف رودخانه‌ای این ماهی نیاز به آب‌هایی با شرایط بهتر دارد و معمولاً در دریاچه‌های گرم و با اکسیژن فراوان و یا در رودخانه‌های عاری از گیاه و سبزه زندگی می‌کند. مسئله حائز اهمیت در مورد فیزیولوژی این ماهی عدم وجود دوره آرامش در زمستان می‌باشد که این ماهی را از اکثر ماهیان متمایز می‌نماید (۱۰).

کسب اطلاع از بیولوژی و فیزیولوژی این ماهی در هنگام استرس و عملکرد کورتیزول به عنوان یک استرس هورمون در بدن، و به تبع آن تغییرات بافتی بیوشیمیایی ذخایر داخلی بدن این ماهی حائز اهمیت به نظر می‌رسد. لذا در این تحقیق به نقش مهم کورتیزول در اثر استرس‌های ایجاد شده برای ماهی و تغییرات بیوشیمیایی بافت عضلانی ماهی سوف مورد بررسی قرار گرفت تا شاید پاسخی برای عدم وجود دوره‌ی کمون کامل و ادامه‌ی روند تغذیه در این ماهی باشد. به این ترتیب اهداف پیش‌بینی شده به شرح زیر در نظر گرفته شد:

- تعیین میزان کورتیزول پلاسما (بررسی فعال شدن محور HPI)
- تعیین میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر (بررسی عملکرد پروتئولیتیک و لیپولیتیک کورتیزول بر عضله)
- متوسط طول ماهی سوف ۵۰-۴۰ سانتی‌متر می‌باشد ولی در رودخانه‌های غنی از مواد غذایی، طول این ماهی به ۱۳۰-۱۲۰ سانتی‌متر و وزن آن به ۱۵-۱۲ کیلوگرم می‌رسد.
- ماهی سوف از گونه‌های متعلق به آب شیرین و از لحاظ اکولوژی جزء ماهیهای نکتون طبقه بندی می‌شود. این گونه از سوف به طور وسیعی در اروپای میانی و شرقی توزیع می‌شوند. توزیع این گونه‌ها در دریای خزر، نواحی خلیجی ولگا، رودخانه‌های اورال و اترک حوضه رودخانه

حرارت داده شد تا باقیمانده به رنگ خاکستری متمایل به سفید و بدون ذرات سیاه به دست آید. بعد از سرد شدن بوته‌ها درصد خاکستر محاسبه شد (۱).

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

تجزیه و تحلیل اطلاعات از طریق آزمون Anova یکطرفه انجام شد. استرس وارده از نوع Chronic Handling در شرایط محیطی یکسان بوده است در هر دوره میانگین، حداکثر، حداقل، انحراف معیار از طریق آنالیز واریانس داده‌ها محاسبه گردید.

نتایج

کورتیزول: میزان کورتیزول پلاسما در خون ماهیان (جدول ۱) در پاییز و زمستان ۱۳۸۴ نشان دهنده افزایش معنی‌داری از لحاظ آماری در میزان کورتیزول ماهیان استرس دیده می‌باشد ($p < 0.05$).

صورت گرفت.

تعیین میزان پروتئین: از روش ماکروکلدال استفاده می‌شود (۱). تعیین میزان چربی: جهت تعیین میزان چربی از روش سوکسله استفاده می‌شود. (۱).

تعیین میزان رطوبت: حدود ۲ گرم از بافت عضلانی رادر ظرف ریخته و دقیقاً وزن شد. سپس در آن در حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ ساعت با فشار ۲۵ میلی لیتر جیوه قرار گرفت و مجدداً خشک نموده و توزین شد.

مجدداً نمونه را به مدت ۲ ساعت داخل آن انتقال داده و پس از سرد شدن در دسیکاتور وزن نموده و در نهایت مقدار رطوبت بافت عضلانی محاسبه گردید (۱).

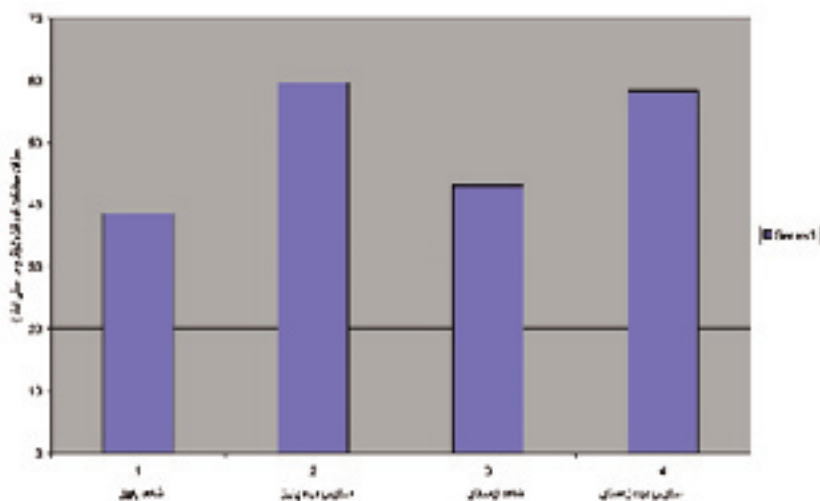
تعیین میزان خاکستر: ۲ گرم نمونه را به دقت وزن کرده و روی اجاق زیر هود سوزانده تا به صورت ذغال و بدون دود در آید.

سپس بوته چینی به مدت ۸ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد

جدول ۱- میانگین مقدار کورتیزول در دوره نمونه برداری

گروه	تعداد	میانگین میکروگرم بر دسی لیتر	انحراف معیار	F-value	درجه آزادی	F-crit
شاهد پاییز ۸۴	۶	۳۸/۴۸	۱/۰۹	۹۶۸/۴۷	۱۹۰۱	۷/۷
تحت استرس پاییز ۸۴	۱۵	۵۹/۶۶	۳/۷۵			
شاهد زمستان ۸۴	۲	۴۳/۱۵	۲/۳	۱۵/۷	۷۰۱	۶/۶
تحت استرس زمستان ۸۴	۷	۵۸/۴۲	۵/۰۱			

مقایسه میانگین کورتیزول در ماهیان شاهد و استرس دیده



بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق میزان کورتیزول در ماهیان استرس دیده نسبت به ماهیان شاهد افزایش که این میزان افزایش از لحاظ آماری معنی دار بوده و حاکی از واکنش فیزیولوژیکی ماهیان در شرایط استرس می باشد. چنانچه یاد آور می شود مهمترین ویژگی پاسخ به استرس در ماهیان فعال شدن محور HPI است که منجر به ترشح کورتیزول می شود (۲۴).

با توجه به آزمایشات انجام شده توسط Barton در سال ۱۹۹۱ و Wendebolar در سال ۱۹۹۷ میزان تغییرات کورتیزول به طور معمول به عنوان یک نشانگر از میزان استرس تجربه شده توسط ماهی می باشد (۳، ۱۳).

طبق یافته های Wedemeyer در سال ۱۹۹۵ (۱۲) میزان کورتیزول در ماهیان در پاسخ به استرس دستی کامل چیزی در حدود ۳-۳۰ میکروگرم در دسی لیتر می تواند افزایش یابد که در این تحقیق

پروتئین: میزان پروتئین در طی دوره نمونه گیری (جدول ۲) به تفکیک ماهیان شاهد و تیمار در هر سه مرحله کاهش معنی داری در ماهیان استرس دیده از لحاظ آماری نشان می دهد ($p < 0/05$).

چربی: میزان چربی در عضله ماهی (جدول ۳) در هر سه دوره نمونه برداری در ماهیان استرس دیده کاهش معنی داری از لحاظ آماری نشان می دهد. ($p < 0/05$)

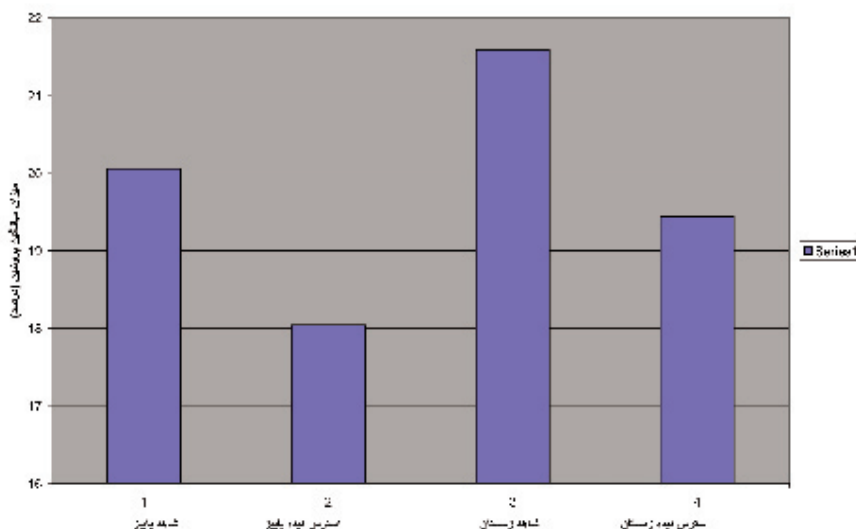
رطوبت: میزان رطوبت افزایش معنی داری (جدول ۴) را در آزمایش به تفکیک شاهد و تیمار نشان می دهد. طی نمونه گیری خلاف میزان پروتئین و چربی، میزان رطوبت در نمونه های تحت استرس افزایش می یابد. ($p < 0/05$)

خاکستر: میانگین میزان خاکستر (جدول ۵) تغییر معنی داری را به تفکیک شاهد و تیمار نشان نمیدهد. هر چند که میزان در صد خاکستر در ماهیان استرس دیده افزایش یافته است ولی این میزان از لحاظ آماری معنی دار نمی باشد ($p < 0/05$).

جدول ۲- میانگین مقدار پروتئین در دوره نمونه برداری

گروه	تعداد	میانگین درصد	انحراف معیار	F-value	درجه آزادی	F-crit
شاهد پاییز ۱۳۸۴	۶	۲۰/۰۶	۰/۸	۱۳/۰۹	۱۹ و ۱	۷/۷
تحت استرس پاییز ۱۳۸۴	۱۵	۱۸/۰۴	۰/۶			
شاهد زمستان ۱۳۸۴	۲	۲۱/۵۹	۰/۲	۶۷/۷	۷ و ۱	۶/۶
تحت استرس زمستان ۱۳۸۴	۷	۱۹/۴۴	۰/۳			

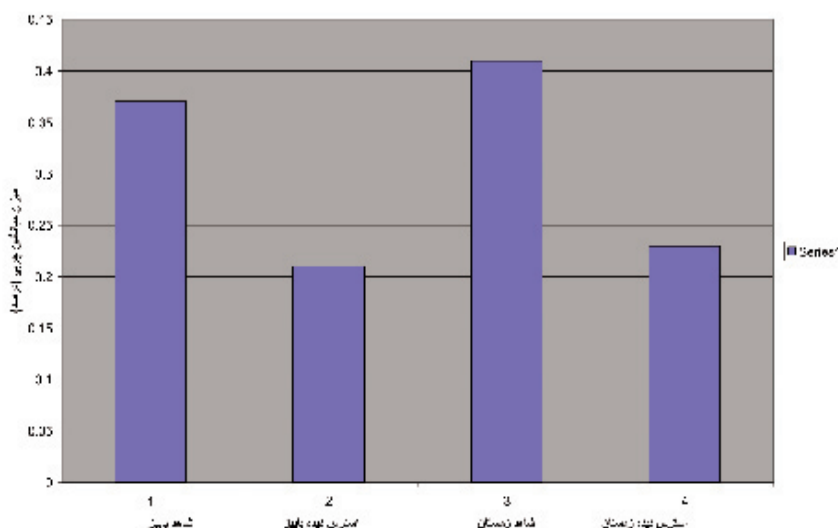
میزان میانگین پروتئین در ماهیان شاهد و تیمار در هر سه دوره



جدول ۳- میانگین مقدار چربی در دوره نمونه برداری

گروه	تعداد	میانگین درصد	انحراف معیار	F-value	درجه آزادی	F-crit
شاهد پاییز ۱۳۸۴	۶	۰/۳۷	۰/۰۳	۶۳/۱۸	۱۹ و ۱	۷/۷
تحت استرس پاییز ۱۳۸۴	۱۵	۰/۲۱	۰/۰۲			
شاهد زمستان ۱۳۸۴	۲	۰/۴۱	۰/۰۱	۷۰/۹۱	۷ و ۱	۶/۶
تحت استرس زمستان ۱۳۸۴	۷	۰/۲۳	۰/۰۲			

میزان میانگین چربی در ماهیان شاهد و استرس دیده



Sehreck در سال ۱۹۸۷ در آز مایشات خود در مورد پاسخ به استرس در ماهیان به این نتیجه رسیدند که یکی از عوامل دیگر که می تواند پاسخ به استرس را تشدید کند عوامل محیطی ماهی می باشد و از آن جمله به رنگ و اندازه تانک های نگهداری، حمل و نقل، نور و شرایط نگهداری اشاره کرده اند (۴).

در مورد آزمایش انجام شده نیز از عوامل تشدید کننده به تشت های نگهداری ماهیان تحت استرس می توان اشاره کرد که محیط مناسبی را از لحاظ تراکم برای ماهیان فراهم نمی کردند.

با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمایش عملکرد فیزیولوژیکی محور HPI و در نتیجه ترشح کورتیزول در سوف که در تغییر فصل (زمستان) دوره کمون و رفتارهای مشابهی با سایر ماهیان نشان نمی دهد مختل تشده و به طور طبیعی انجام می گیرد اما سوالاتی از نقطه نظر رفتارهای متفاوت در مورد سوف باقی است که به تحلیل آن می پردازیم.

بخصوص سرتونین نقش مهمی را در این چرخه به عنوان کاتکل آمین اپی نفرینی در ماهی طی دوره استرس بازی می کند و از آنجا که سرتونین در مغز همیشه باعث اثرات مهاری است با کاهش فعالیت و

با توجه به افزایش میزان کورتیزول در نمونه های استرس دیده به طور میانگین ۱۹ میکروگرم در دسی لیتر و با در نظر گرفتن نظرات Barton و Wendebolar در مورد تغییرات کورتیزول به عنوان نشانگر میزان استرس میتوان بیان کرد که استرس دستی وارد شده به عنوان یک استرس دستی نسبتاً کامل در تحریک سیستم فیزیولوژیکی ماهی بوده است (۳، ۱۳).

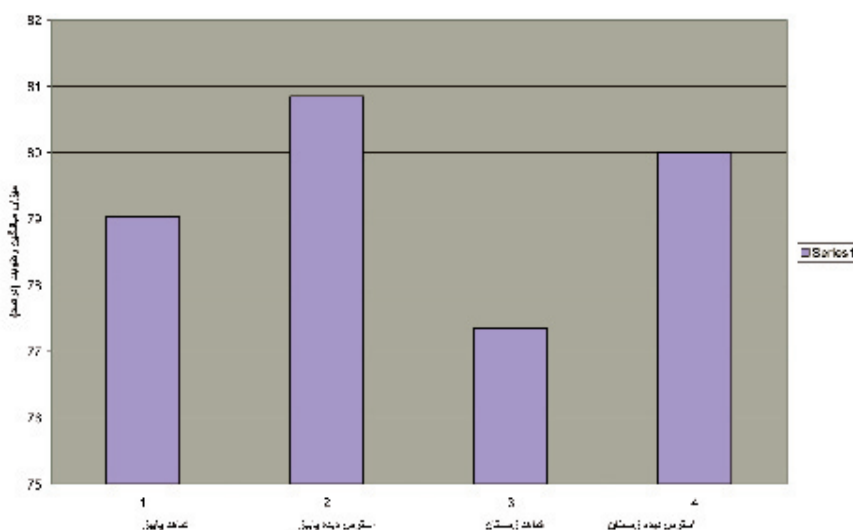
علاوه بر این برخی مطالعات توسط Barton در سالهای ۱۹۹۸-۲۰۰۰ حاکی از این است که ایجاد استرس به صورت دنباله دار و مداوم پاسخ های فید بکی منفی از سوی کورتیزول ترشح شده راخنشی کرده و ترشح آدنو کورتیکوتروپین و در نتیجه کورتیزول ادامه می یابد (۴). در ماهی پاسخ های حداکثر کورتیکوستروئیدی را ایجاد کند. در این آزمایش نیز یکی از عوامل افزایش بالای کورتیزول در ماهیان استرس دیده می تواند تکرار عامل استرس باشد. همچنین در Barton در تحقیق خود اضافه می کند که زمان افزایش کورتیزول در ماهیان متفاوت بوده و شروع افزایش کورتیزول از یک تا چهار ساعت بعد از ایجاد استرس در ماهیان مختلف متغیر است.

Davis و Strange در سال ۱۹۸۴ (۱۱) و همچنین Barton و

جدول ۴- میانگین مقدار رطوبت در دوره نمونه برداری

گروه	تعداد	میانگین درصد	انحراف معیار	F-value	درجه آزادی	F-crit
شاهد پاییز ۱۳۸۴	۶	۷۹/۰۳	۰/۶۵	۱۱/۷۶	۱۹و۱	۷/۷
تحت استرس پاییز ۱۳۸۴	۱۵	۸۰/۸۵	۰/۶۸			
شاهد زمستان ۱۳۸۴	۲	۷۷/۳۵	۰/۲۴	۱۲/۷	۷و۱	۶/۶
تحت استرس زمستان ۱۳۸۴	۷	۸۰	۰/۲۶			

میانگین میزان رطوبت در ماهیان شاهد و استرس در فصل



فراهم می‌نماید. تخلیه پروتئین توسط آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین که در ماهیچه ماهی یافت می‌شوند صورت می‌گیرد.

بدین ترتیب پاسخ ثانویه از نوع تغییرات متابولیکی و تغییرات ترکیبات عضله در این آزمایش نیز مشاهده می‌شود که با نتایج پیکرینگ در سال ۱۹۹۸ در مرکز آکادمیک شفیلد در انگلیس در ماهی آزاد در مورد پاسخ‌های ماهیان به استرس و FIOS در سال ۱۹۸۸ در مورد پاسخ ثانویه ماهیان به استرس مشابهت دارد (۶).

لازم به ذکر است با بررسی میزان میانگین در ماهیان شاهد در پاییز ۱۳۸۴ با میانگین پروتئین در ماهیان شاهد زمستان ۱۳۸۴ میتوان به این نتیجه رسید که درصد پروتئین در ماهیان شاهد زمستان نسبت به پاییز افزایش یافته است که این میزان افزایش درصد پروتئین طی مدت ۵ ماه مربوط به فیزیولوژی رشد و جایگزینی بافت‌های عضلانی در مقابل رطوبت موجود در بدن می‌باشد که تاییدی بر نقش ساختمانی و شکل دهنده‌ی بافت‌های داخلی بدن توسط پروتئین می‌باشد.

افزایش کورتیزول موجب افزایش میزان متابولیسم چربی در بدن ماهی شده و موجب افزایش تجزیه چربی و آزاد شدن FFA در پلاسما می‌گردد و با افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب منجر به تشدید

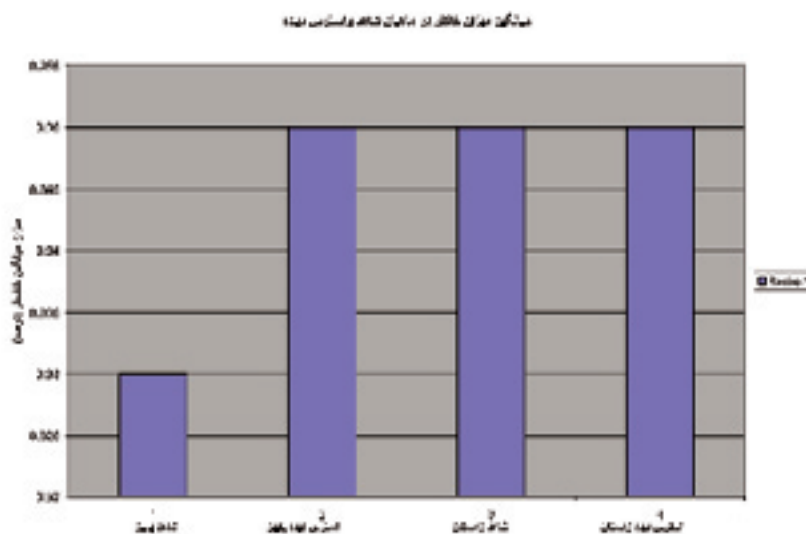
کمون در ماهی استرس دیده مواجه خواهیم بود.

در مورد ماهی سوف در زمان تغییر فصل چنانچه گفته شد عکس العمل‌هایی از نوع سوم یعنی تغییرهای رفتاری و فعالیتی و به اصطلاح کمون وجود ندارد که این مطلب با توجه به آنچه که Barton در تحقیق خود عنوان می‌کند و پاسخ از نوع سوم را از گونه ای به گونه دیگر تحت اثر ژنتیک و محیط متغیر می‌داند قابل توجیه است. هر چند که فعال شدن پاسخ فیزیولوژیکی به استرس تغییر فصل در ماهی سوف از نوع اولیه و ثانویه کاملاً طبیعی است، ولی سوف به عنوان یک گونه فعال و شکارچی پاسخ نوع سوم یعنی تغییر رفتار را از نوع کم تحرکی انتخاب می‌کند و در سایر مواقع از جمله دوران تخم ریزی مانند سایر ماهی‌ها فعالیت و کمون را در پیش می‌گیرد.

کورتیزول با کاهش ذخایر پروتئین در کلیه سلولهای بدن و کاهش سنتز پروتئین و افزایش کاتابولیسم پروتئین‌های خارج سلولی و کاهش سنتز پروتئین ناشی از کاهش انتقال اسید آمینه به داخل بافت‌های خارج کبدی به تجزیه پروتئین می‌پردازد و به عنوان یک فاکتور پروتئولیتیک عمل کرده و علی‌رغم ادامه روند دریافت انرژی از طریق تغذیه، انرژی کافی را جهت فعالیت‌های فیزیولوژیکی بدن از طریق تجزیه پروتئین

جدول ۵- میانگین مقدار خاکستر در دوره نمونه برداری

گروه	تعداد	میانگین درصد	انحراف معیار	F-value	درجه آزادی	F-crit
شاهد پاییز ۱۳۸۴	۶	۰/۹۳	۰/۰۶	۰/۳۱	۱۹۰۱	۷/۷
تحت استرس پاییز ۱۳۸۴	۱۵	۰/۹۵	۰/۰۵			
شاهد زمستان ۱۳۸۴	۲	۰/۹۵	۰/۰۷	۰	۷۰۱	۶/۶
تحت استرس زمستان ۱۳۸۴	۷	۰/۹۵	۰/۰۷			



رطوبت افزایش می یابد که این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار می باشد و از میزان میانگین ۷۸/۵۴ درصد در ماهیان شاهد به ۸۰/۴۹ درصد در ماهیان استرس دیده افزایش می یابد. بدین ترتیب بافت های پروتئین و چربی تجزیه شده جای خود را به بافت حاوی رطوبت داده و میزان رطوبت عضله افزایش می یابد.

همچنین در مقایسه میزان میانگین رطوبت در ماهیان شاهد پاییز ۸۴ با ماهیان شاهد زمستان ۸۴ مشاهده می شود که میزان کل رطوبت در ماهیان شاهد زمستان کاهش یافته است و مطابق آنچه که در بخش پروتئین عنوان شده است این کاهش مربوط به رشد و نمو ماهی و جایگزینی بافت های عضلانی به جای بافت های حاوی رطوبت می باشد. طبق نتایج بدست آمده میزان میانگین خاکستر شاهد و استرس دیده تغییر معنی دار نشان نمی دهد و در حدود ۰/۹ درصد در هر دو سری نمونه می باشد.

Sibbert و همکارانش در سال ۱۹۶۴ دریافتند که مقادیر چربی و پروتئین بدن به طور قابل ملاحظه در ماهی گرسنه کاهش می یابد در صورتی که مقدار مواد غیر آلی (خاکستر) در حد ثابت باقی می ماند (۱۰).

متابولیت ها می شود. تجزیه چربی ها و اکسیداسیون اسید چرب در سلولها منجر به تکثیر سیستم متابولیکی در زمان بی غذایی، استرس و مهاجرت طولانی شده و از FFA برای ایجاد انرژی استفاده می کند. همچنین Sadovy در سال ۱۹۹۳ تحقیقاتی بر روی ترکیبات بدن (پروتئین و چربی) در فازهای مختلف تولید مثلی انجام داده و دوران تخم ریزی به عنوان یک استرس زا باعث کاهش میزان ذخیره عضله ماهی از جمله چربی می شود (۸).

تحقیقات مشابه توسط Criak و Mackenzie در سال ۲۰۰۰ انجام شده که تغییرات بیوشیمیایی ترکیبات بدن را در تغییرات فصلی به عنوان محرک استرس زا در ماهی بررسی می کند (۹). در این تحقیق میزان درصد چربی از ۰/۳۸ در ماهیان شاهد به ۰/۲۲ در ماهیان استرس دیده کاهش می یابد که تغییر مذکور از لحاظ آماری معنی دار است و در واقع نتایج حاصله با نتایج به دست آمده در تحقیقات ذکر شده مشابهت دارد و اختلاف معنی دار میزان چربی در ماهیان شاهد و استرس دیده حاکی از واقعیت عملکرد کورتیزول به عنوان یک فاکتور لیپولیتیک در ماهیان استرس دیده است. طی روند کاهش میزان پروتئین و چربی در بدن ماهیان میزان

Schreck.(ed.) 1997; Fish stress and health in aquaculture.Soc. Exp . Biol.Sem.Ser.62. Cambridge Univ.Press,Cambridge, U.K.

8- Sadovy. Y. 1993; Size, Composition and Spatial Structure of The annual Spawning aggregation of The red hind *Epinephelus guhatus*. 2; 399-406.

9- Crag and Meckenzie. 2000; The regulation of Thyroid function in fish, Dept of Biology.

10-Sibbert,G,Schmitt,A,andBoltke,I., 1964; Enzymes of the amino acid metabolism in cod musculature.Arch.Fishes.Wis s.15:233-244 In:An Introduction toIchthyology, Moyle.p.B, and Cech.J.J,2000, 4th edn.Prentic-hall,upper Saddle River NewJersey.

11- Strange. E. Davis, D. 1984; The stress response in fish, Department of biology, Ecological Research Center. USA.

12-Wedemeyer ,G.A.,B.A. Barton , and D.J.McLeay.1995; Stress and acclimation. In C.B. Schreck and P.B. Moyle (eds.), Methods for fish biology ,pp.451-489. American Fisheries Society , Bethesda , Mary land.

13- wendelaar Bonga. 1997; Effect of stocking density on biological Parameters and The Stress in fish, Department of Animal Physiolog, University of Nijemegan, The Netherland.

نتایج مشاهده شده در این آزمایش با مشاهدات Sibbert و همکارانش مطابقت دارد و میزان در ماهیان استرس دیده ثابت می ماند.

منابع مورد استفاده

- ۱- حسینی زیبا، ۱۳۶۹، روش های متداول در تجزیه مواد غذایی، دانشگاه شیراز ص: ۲۱۰.
- ۲- وثوقی غلامحسین، ۱۳۸۱، ماهیان آب شیرین، دانشگاه تهران.
- 3- Barton, B.A., 2002; A diversity of responses with particular areference to changes in circulating corticosteroids.
- 4-Barton,B.A.,C.B.Schreck, andl.A.Sigismondi.1987; Changes in plasma cortisol during stress and smoltification in oncorhynchus kisutch.
- 5-Barton , B.A., Boling, B.L. Hauskins, and C.R.Janes. 2000; Juvenile pallid and hybrid pallid x shovelnose sturgeons exhibit low physiological responses to acute handling and severe confinement . Comp .Biochem, physiol,126A:125-134.
- 6-Flos, R., L. Reige, P. Torres, and L. Tort.1988; Primary and secondary stress responses to grading and hauling in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquaculture, 71: 99-106.
- 7-Iwama, G.K., A.D. Pickering, J.P. Sumpter, and C.B.

